

УДК 577.115.3

ББК 36.87

А-64

Евтеев Александр Викторович, ведущий специалист учебно-научно-испытательной лаборатории по определению качества пищевой и сельскохозяйственной продукции, ФГБОУ ВО «Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова»; 410005, г. Саратов, ул. Б. Садовая, 220; тел.: 8(987)8381965; e-mail: ewteew@gmail.com;

Крепнева Анастасия Алексеевна, аспирант кафедры «Технологии продуктов питания», ФГБОУ ВО «Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова»; 410005, г. Саратов, ул. Соколова, 335; тел.: 8(937)8001046, e-mail: grishanova-a@mail.ru;

Горбунова Наталья Владимировна, аспирант кафедры «Технологии продуктов питания», ФГБОУ ВО «Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова»; 410005, г. Саратов, ул. Соколова, 335, тел.: 8(917)0297981; e-mail: gelladriel@gmail.com;

Разумова Людмила Сергеевна, аспирант кафедры «Технологии продуктов питания», ФГБОУ ВО «Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова»; 410005, г. Саратов, ул. Соколова, 335; тел.: 8(917)0250583, e-mail: ljusechka17@mail.ru;

Банникова Анна Владимировна, кандидат технических наук, доцент кафедры «Технологии продуктов питания», заведующая учебно-научно-испытательной лабораторией по определению качества пищевой и сельскохозяйственной продукции, ФГБОУ ВО «Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова»; 410005, г. Саратов, ул. Соколова, 335; тел.: 8(937)2451220, e-mail: annbannikova@gmail.com

**АНАЛИЗ ФИЗИЧЕСКИХ СВОЙСТВ И БИОДОСТУПНОСТИ
ИНКАПСУЛИРОВАННЫХ ФОРМ МОДЕЛЬНЫХ
ЭССЕНЦИАЛЬНЫХ ЖИРНЫХ КИСЛОТ
(рецензирована)**

Был проведен анализ физических свойств и биодоступности инкапсулированных форм эссенциальных жирных кислот в условиях ферментативного гидролиза, имитирующих желудочно-кишечный тракт человека. Установлена прямая связь между механическими характеристиками капсул и транспортом биоактивных веществ в рамках экспериментального времени.

***Ключевые слова:** инкапсуляция, механические свойства, контролируемое высвобождение, ферментативный гидролиз.*

Evteev Alexander Victorovich, a leading specialist of the Educational and Scientific Testing Laboratory for Determining Quality of Food and Agricultural Products, FSBEI HE "Saratov State Agrarian University named after N.I. Vavilov"; 410005, Saratov, 220 B. Sadovaya str.; tel.: 8 (987) 8381965; e-mail: ewteew@gmail.com;

Krepneva Anastasia Alexeevna, a post-graduate student of the Department of Food Technology, FSBEI HE "Saratov State Agrarian University named after N.I. Vavilov"; 410005, Saratov, 335 Sokolovaya str.; tel.: 8 (937) 8001046, e-mail: grishanova-a@mail.ru;

Gorbunova Natalia Vladimirovna, a post-graduate student of the Department of Food Technology, FSBEI HE "Saratov State Agrarian University named after N.I. Vavilov"; 410005, Saratov, 335 Sokolovaya str.; tel.: 8 (917) 0297981; e-mail: gelladriel@gmail.com;

Razumova Lyudmila Sergeevna, a post-graduate student of the Department of Food Technology, FSBEI HE "Saratov State Agrarian University named after N.I. Vavilov"; 410005, Saratov, 335 Sokolovaya str.; tel.: 8 (917) 0250583, e-mail: ljusechka17@mail.ru;

Bannikova Anna Vladimirovna, Candidate of Technical Sciences, an assistant professor of the Department of Food Technology, head of the Educational and Scientific Testing Laboratory for Determining Quality of Food and Agricultural Products, FSBEI HE "Saratov State Agrarian University named after N.I. Vavilov"; 410005, Saratov, 335 Sokolovaya str.; tel.: 8 (937) 2451220, e-mail: annbannikova@gmail.com.

ANALYSIS OF PHYSICAL PROPERTIES AND BIOAVAILABILITY OF ENCAPULATED FORMS OF MODEL ESSENTIAL FATTY ACIDS

(Reviewed)

Physical properties and bioavailability of the encapsulated forms of essential fatty acids under the conditions of enzymatic hydrolysis simulating the human gastrointestinal tract have been analyzed. A direct link between mechanical characteristics of the capsules and transportation of bioactive substances within the experimental time has been established.

Keywords: *encapsulation, mechanical properties, controlled release, enzymatic hydrolysis.*

Ни для кого не секрет, что питание и образ жизни являются важнейшей составляющей, определяющей здоровье человека, а также способность к эффективному труду и продолжительности жизни. При этом продукты питания должны не только удовлетворять потребность человека в основных питательных веществах, но и не содержать опасных для здоровья веществ. Одной из главных причин смертности населения во всех странах мира, как с развитой, так и переходной экономикой, в настоящее время являются заболевания сердечно-сосудистой системы. Таким образом, устранение причин возникновения именно этих заболеваний является актуальной задачей настоящего.

Основной причиной развития болезней данной системы является потребление значительного количества транс-жиров, в то время как потребление эссенциальных масел (ω -3, ω -6 и ω -9) снижено. Незаменимые жирные кислоты – ряд полиненасыщенных жирных кислот, которые принимают значительное участие в метаболизме человека. Организм способен преобразовывать кислоты одного класса в другой, но не способен синтезировать оба класса из более простых веществ, поэтому они обязательно должны присутствовать в пище, подобно микроэлементам и витаминам. Основные трудности, связанные с введением, например, рыбьего жира, богатого эссенциальными ω -3 кислотами, в пищевые продукты являются его нерастворимость в воде и окислительные процессы с последующим появлением нежелательного прогорклого запаха и вкуса. Данная проблема может быть решена с помощью технологии инкапсулирования, которая может быть использована для доставки биологически активных веществ в нативном виде, защищая их от воздействия влаги, ионов металлов, кислорода и температуры [1-3]. Микроинкапсулирование может быть определено как процесс построения функционального барьера между инкапсулируемым веществом и стеновым материалом в целях избежания химических и физических реакций и поддержания биологических и функциональных свойств эссенциальных веществ. В этой связи их защита и иммобилизация является актуальным направлением исследований [4]. Целью настоящей работы является создание инкапсулированных форм жирных кислот и исследование степени высвобождения инкапсулируемого вещества в процессе ферментативного гидролиза, имитирующего желудочно-кишечный тракт человека. В литературе описано

достаточное количество примеров по инкапсулированию масел, красителей, ароматизаторов, белков, витаминов и других веществ, однако имеется недостаточно информации по сравнению различных способов инкапсуляции и изменению физических параметров капсул, степени биодоступности инкапсулированного ингредиента и проявлению заданных физиологически ценных свойств.

Для приготовления капсул, в водный 1,5% раствор альгината натрия вносили 20% и 40% модельных эссенциальных жирных кислот, соответственно. Эмульсию тщательно примешивали, гомогенизировали, а затем капли, сформированные с помощью делительной иглы диаметром 0,5 мм, добавляли в 0,012 М раствор хлорида кальция для образования сфер диаметром 1,5-2 мм. Полученные капсулы хранили в 0,01 М растворе CaCl.

Деградация капсул была исследована в ходе имитации модели переваривания в желудочных и кишечных соках.

Модельный «искусственный желудок»: 2 %-ный раствор NaCl в деионизированной воде, pH 2 (1 М HCl), пепсин 3600 U/мл, температура 37°C. Образцы инкубировали на водяной бане при постоянном встряхивании в течение заданного периода времени (120 мин.).

Модельный «искусственный кишечник»: 0,68% одноосновного фосфата калия; 0,1% солей желчных кислот; 0,4% панкреатина, pH 7,5 (0,5 М NaOH), температура 37°C. Образцы инкубировали в водяной бане при постоянном встряхивании в течение заданного периода времени (≈ 20 мин.).

Текстурный анализ: сжатие капсул, прошедших условия ферментативного гидролиза *in vitro*, было проведено с помощью анализатора текстуры Brookfield CT3-4500. Измерительная проба состояла из цилиндрического алюминиевого зонда (диаметр 6 мм), которым было проведено сжатие образца на 30% от первоначальной высоты капсулы, со скоростью 1,5 мм/с и нагрузкой 0,067 Н. В целях получения статистически репрезентативных результатов, было сжато тридцать капсул каждого образца. Все эксперименты проводили при комнатной температуре ($22 \pm 1^\circ\text{C}$).

Модуль Юнга рассчитывали, используя следующее уравнение [1]:

$$E = \frac{3 \times (1 - \nu^2) \times F}{\sqrt{d} \times H^3} \quad (1)$$

где d – диаметр капсулы, мм; F – сила, приложенная к капсуле, Н; H – смещение, м; ν – коэффициент Пуассона.

Кинетика высвобождения эссенциальных масел из их инкапсулированных форм контролировалась методом количественного анализа с помощью UV-VIS-спектроскопии. Данный метод основан на определении оптической плотности растворенных в гексане масел при 260-300 нм. Полученные результаты концентраций масел в гексане, в максимуме поглощения $\lambda_{\text{max}} = 280,5$ нм при 20°C, в пределах экспериментального диапазона 0,4-1,2 мг/мл, имеют линейную зависимость $R^2 = 0,999$ (закон Ламберта-Бера) [5].

В настоящее время потребительский интерес значительно возрос в функциональных пищевых продуктах, обогащенных ω -3 жирными кислотами. Проблема в производстве таких продуктов связана со стабильностью масла в продукте, а также с поддержанием приемлемых реологических и органолептических показателей. Хорошо известно, что многие липиды чувствительны к воздействию света, тепла и кислорода, и, таким образом, претерпевают окислительные процессы, что является одной из основных причин ухудшения текстуры, вкуса, аромата, цвета и срока годности продуктов.

Говоря о влиянии внешних условий среды на биологически активные соединения следует учитывать, что взаимодействия микро- и макронутриентов могут не только оказывать прямое разрушающее или инактивирующее воздействие, но и косвенное влияние путем снижения биодоступности и степени всасывания микронутриента в кишечнике. В этой связи актуальными являются исследования по изучению поведения не только самих капсул в процессе переваривания, но и оценке кинетики высвобождения инкапсулируемого компонента, что в полной мере характеризует процесс усвояемости данных эссенциальных ингредиентов.

Оценка поведения физических свойств капсул в процессе ферментативного гидролиза была осуществлена с помощью измерения механических свойств (модуль Юнга) (рис. 1). Показано, что прочность капсул значительно различается в зависимости от количества инкапсулируемых жирных кислот. Увеличение содержания жирных кислот ведет к уменьшению прочности геля и, как следствие, снижению модуля Юнга. Выявлено, что капсулы, содержащие 40% жирных кислот, обладали недостаточной способностью к инкапсуляции всех биологически активных веществ, что имеет значение в последующих разработках для определения количества инкапсулируемого вещества.

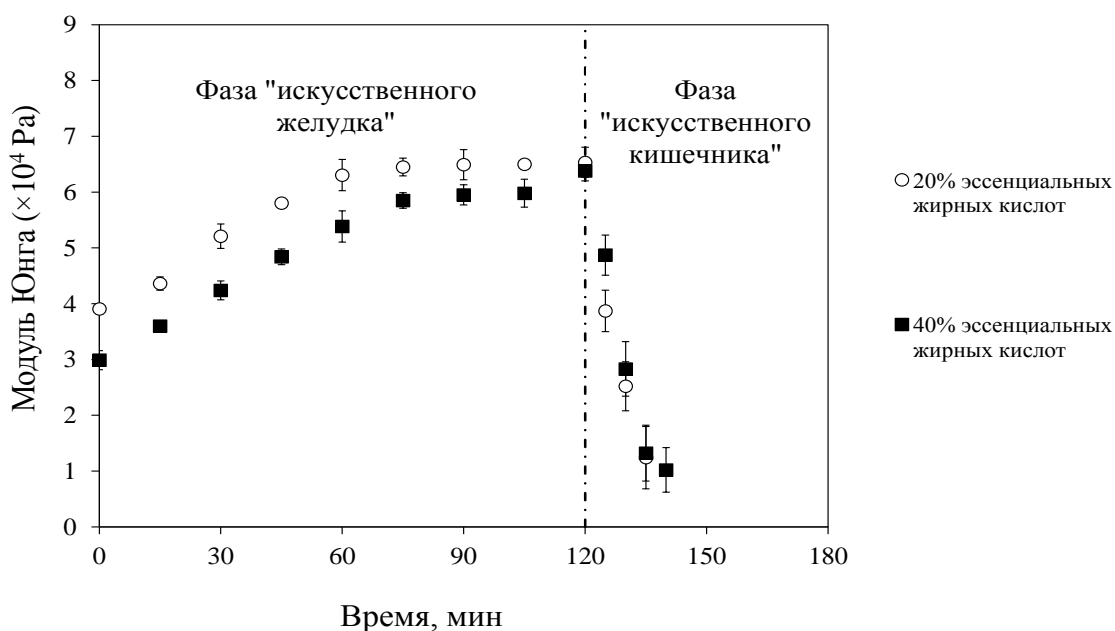


Рис. 1. Модуль Юнга капсул в моделируемых условиях желудочно-кишечного тракта

Оба вида капсул демонстрируют снижение прочности во время фазы «искусственного кишечника», что связано с более открытой пористой структурой геля. Во время кишечной фазы, модуль Юнга статистически не различался в связи с набуханием и дроблением полимерной сетки. Таким образом, было отмечено, что структура капсул в конце фазы модельного «желудка» была гораздо более плотная, чем структура геля наблюдаемая в конце кишечной фазы. Возрастающая пористость геля увеличивает шарики, что, в конечном счете, приводит к разрушению и высвобождению инкапсулируемого ингредиента [6, 7]. Полученные данные позволяют рассматривать разработанные капсулы в качестве защитного средства для предотвращения окисления эссенциальных жирных кислот, а также их контролируемой доставки. На следующем этапе работы было изучено изменение содержания инкапсулированного соединения в процессе ферментативного гидролиза *in vitro* с учетом разрушения капсул и высвобождения биологически активных веществ.

Экспериментальные данные свидетельствуют, что созданные инкапсулированные формы эссенциальных жирных кислот защищены от воздействия неблагоприятных факторов

и проходят агрессивную среду модельного «желудка» (рис. 2). Выявлено, что почти 90% от остаточного количества эссенциальных жирных кислот было высвобождено из капсул в модельной фазе «искусственного кишечника». В конце эксперимента капсулы высвобождали все инкапсулированные биологически активные вещества, независимо от содержания в них эссенциальных жирных кислот.

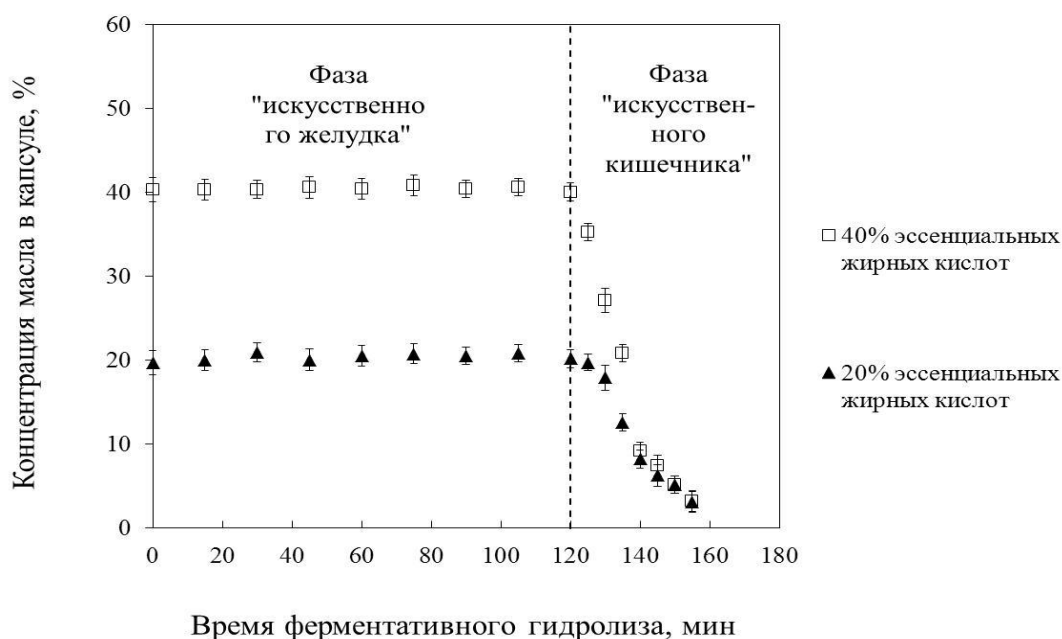


Рис. 2. Концентрация эссенциальных жирных кислот в капсулах в модельных условиях желудочно-кишечного тракта

На рисунке 3 изображены изменения модуля Юнга и изменения профиля высвобождения эссенциальных веществ в модельных условиях желудочно-кишечного тракта в зависимости от времени [1]:

$$C = 100 - \left(\frac{C_i}{C_0} \times 100 \right) \quad (2)$$

где C – высвобождение вещества, %; C_i – обозначает концентрацию вещества в определенное время, %; C_0 – это начальная концентрация вещества, %.

Полученные результаты указывают на значительное увеличение значений модуля Юнга в имитированных желудочных условиях и его значительном снижении в условиях модельного кишечника. Показано, что кинетика высвобождения относительно постоянно в течение 120 мин., однако происходит ее резкий скачок в дальнейшем ходе эксперимента, что подтверждает доставку биологически активного соединения в моделируемой тонком кишечнике. Было доказано, что высвобождение биологически активных веществ определяется характером капсул и условиями окружающей среды, где механические свойства капсул считаются основой для оптимального использования кинетики доставки с максимальной скоростью в кишечной фазе.

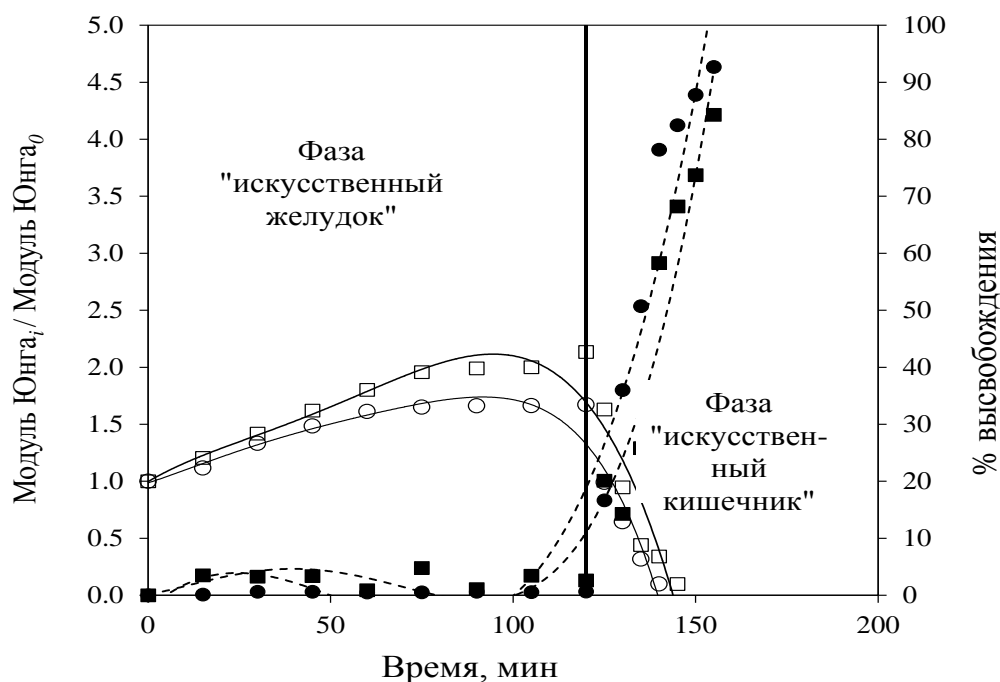


Рис. 3. Взаимосвязь механических свойств (открытые символы) и кинетики высвобождения эссенциальных жирных кислот (закрытые символы) в модельных условиях желудочно-кишечного тракта (○● – 20% масла и ■□ – с 40% масла)

Выводы. Обобщая вышесказанное, интерес данной работы заключается в анализе кинетики высвобождения биологически активных веществ, а также факторов, влияющих на данный процесс. При исследовании влияния модельных условий желудочно-кишечного тракта, наблюдали заметное уплотнение геля капсул из композиционных материалов при низких рН, что предполагает усиление межмолекулярных взаимодействий полимера. Исследования механических свойств выявили, что полученные капсулы в конечном итоге распадаются в течение 160 мин модельного пищеварения, таким образом, подтверждая возможность управляемой доставки биоактивных компонентов в пищевой, фармацевтической и биотехнологической промышленности. Таким образом, полученные данные позволяют предположить, что данная технология перспективна в качестве барьерной технологии, что дополнительно может использоваться в производстве пищевых продуктов профилактической и функциональной направленности.

Литература:

1. Kinetics of ascorbic acid transport from alginate materials during in vitro digestion / Gorbunova N. [etc] // Journal of Food and Nutrition Research. 2016. №55(2). P. 148-158.
2. Investigation of alginate beads for gastro-intestinal functionality, Part 1: In vitro characterization / Rayment P. [etc] // Food Hydrocolloids. 2009. №23. P. 816-822.
3. Банникова А.В. Разработка технологии инкапсулированных форм белков и антиоксидантов // Современная наука и инновации. 2016. №1(16). С. 56-60.
4. Горбунова Н.В, Банникова А.В. Практические аспекты создания и исследование инкапсулированных форм аскорбиновой кислоты в условиях ферментативного гидролиза // Технология и товароведение инновационных пищевых продуктов. 2016. №2(37). С. 35-40.
5. Determination of total phenolic content in olive oil samples by UV–visible spectrometry and multivariate calibration / Fuentes E. [etc] // Food Analytical Methods. 2012. №5. P. 1311-1319.

6. Горбунова Н.В., Банникова А.В. Совершенствование получения биополимерных матриц адресной доставки инкапсулированных форм биологически активных веществ // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2016. №6(2). С. 65-70.

7. Оценка возможности применения полислойных капсул на основе пищевых волокон в качестве средств адресной доставки биоактивных белков / Разумова Л.С. [и др.] // Аграрный научный журнал. 2016. №8. С. 75-78.

Literature:

1. *Kinetics of ascorbic acid transport from alginate materials during vitro digestion / Gorbunova N. [etc] // Journal of Food and Nutrition Research. 2016. No. 55 (2). P. 148-158.*

2. *Investigation of alginate beads for gastro-intestinal functionality, Part 1: In vitro characterization / Rayment P. [etc] // Food Hydrocolloids. 2009. № 23. P. 816-822.*

3. *Bannikova A.V. Development of technology of encapsulated forms of proteins and antioxidants // Modern Science and Innovation. 2016. No. 1 (16). P. 56-60.*

4. *Gorbunova N.V., Bannikova A.V. Practical aspects of creation and study of encapsulated forms of ascorbic acid under conditions of enzymatic hydrolysis // Technology and Commodity Research of Innovative Food Products. 2016. No. 2 (37). P. 35-40.*

5. *Determination of total phenolic content in olive oil samples by UV-visible spectrometry and multivariate calibration / Fuentes E. [etc] // Food Analytical Methods. 2012. № 5. P. 1311-1319.*

6. *Gorbunova N.V., Bannikova A.V. Improvement of obtaining biopolymer matrices of targeted delivery of encapsulated forms of biologically active substances // Proceedings of universities. Applied chemistry and biotechnology. 2016. No. 6 (2). P. 65-70.*

7. *Evaluation of the possibility of using multilayer capsules based on dietary fiber as a means of targeted delivery of bioactive proteins / Razumova L.S. [et al.] // Agrarian Scientific Journal. 2016. No. 8. P. 75-78.*